

文章编号:1005-6947(2008)05-0504-02

· 简要论著 ·

# 胃癌患者围手术期 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> 调节性 T 细胞的变化及其意义

张育超<sup>1</sup>, 王惠英<sup>2</sup>, 吕永添<sup>1</sup>, 伍衡<sup>1</sup>

(中山大学第二附属医院 1. 普通外科 2. 检验科, 广东 广州 510120)

**摘要:**目的 探讨胃癌患者围手术期 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> 调节性 T 细胞的变化及其意义。方法 应用流式细胞仪检测 52 例胃癌患者(胃癌组)术前、术后 7 d, 术后 1 个月 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> T 细胞水平, 并以 24 名健康者作为对照(对照组)。结果 胃癌组外周血 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> T 细胞较对照组明显升高; 胃癌组经根治或姑息术切除肿瘤 1 个月后, 外周血 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> T 细胞水平较术前及术后 1 周明显下降, 而术后 1 周与术前比较无统计学差异。结论 胃癌组患者外周血 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> T 细胞水平明显升高可能是机体免疫功能受抑制的重要机制。该指标可能成为胃癌免疫状态临床监测的指标。

[中国普通外科杂志, 2008, 17(5): 504-505]

**关键词:** 胃肿瘤; T 细胞, 调节性; 流式细胞仪

**中图分类号:** R 735.2

**文献标识码:** B

目前胃癌的治疗效果并不令人满意, 其中主要原因之一是胃癌患者机体免疫功能低下, 低下的程度与预后有关。近年研究发现, CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> 调节性 T 细胞具有维持肿瘤患者免疫耐受的作用, 在抗肿瘤治疗中具有十分重要的意义。本研究通过检测胃癌患者外周血 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> T 细胞围手术期的变化, 评价胃癌患者手术前后的细胞免疫功能状态及其临床意义。

## 1 材料和方法

### 1.1 分组及一般资料

1.1.1 胃癌组 52 例。男 38 例, 女 14 例; 年龄 29~76 岁, 中位年龄 42 岁。高分化腺癌 16 例, 中分化腺癌 14 例, 低分化腺癌 22 例。均经术前胃镜及术后病检证实。TNM 分期: I 期 8 例, II 期 12 例, III 期 22 例, IV 期 10 例。全组患者行根治术 42 例, 姑息性切除术 10 例。

1.1.2 对照组 24 例。男 20 例, 女 4 例; 中位年龄 40 岁。均为健康体检者。

### 1.2 检测项目及方法

对照组于受试日晨抽外周静脉血检测 CD4<sup>+</sup>,

CD25<sup>+</sup> T 细胞水平, 胃癌组术前、术后 7 d 和术后 1 个月抽血检查 CD4<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup> T 细胞水平。

**检测方法:** 取静脉血 2 mL, 肝素抗凝; 梯度离心分离淋巴细胞, 以 RPMI 1640 培养基洗涤 2 次, 再以含 1% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基重悬细胞; 计数淋巴细胞, 稀释细胞浓度至  $1 \times 10^6$ /mL, 取 1 mL 细胞悬液置于试管中, 放入冰溶备用。取上述细胞悬液, 1 500 r/min 离心 10 min, 弃上清后, 取 FITC 标记的 CD4 抗体和 PE 标记的 CD25 抗体各 20  $\mu$ L。各管加入单抗后置 4. C 冰箱中避光孵育 30 min 后, 加入 1% BSA - PBS 液离心和洗涤 2 次, 稀释至 300  $\mu$ L 移入试管中, 待作流式细胞仪分析。用 Becton Dikison FACS Calibur 流式细胞仪测定淋巴细胞表面各种荧光素的荧光强度, 用空白对照和阴性对照消除自发荧光和非特异荧光(圈出拟测定的淋巴细胞群, 每次分析 10 000 个细胞)。荧光强度以二维散点图(dot - plot) 储存于电子计算机中。自动分析结合某一单抗的阳性细胞个数和百分比, 在 FITC - CD4/PE - CD25 双参数图上计算所获 CD4<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup> T 细胞的比例。

$$\text{CD4}^+ \text{CD25}^+ \text{T 细胞百分比} = \frac{\text{CD4}^+ \text{CD25}^+ \text{T 细胞数}}{\text{CD4}^+ \text{T 细胞数}} \times 100\%$$

### 1.3 统计学处理

所测数据采用 SPSS11 软件包在计算机上分析组间差异采用 *t* 检验。P < 0.05 表示有统计学差异。

收稿日期: 2007-01-22; 修订日期: 2007-11-17。

**作者简介:** 张育超, 男, 中山大学附属第二医院主治医师, 主要从事胃肠肿瘤方面的研究。

**通讯作者:** 张育超 E-mail: zyc19761024@tom.com

## 2 结果

### 2.1 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞水平检测结果

2.1.1 胃癌组术前外周血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞平均水平为(15.54 ± 5.51)%,明显高于健康对照组的(8.63 ± 5.25)%( $P < 0.05$ )。

2.1.2 不同性别、年龄、肿瘤部位 细胞分化程度个分组间无统计学差异( $P > 0.05$ )。Ⅲ + Ⅳ期患者术前外周血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞水平比 I + Ⅱ患者明显升高( $P < 0.05$ )(表1)。

表1 术前 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞水平与胃癌生物学特征

| 病理特征   | n  | 术前 CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> (%) | P 值        |
|--------|----|---|------------|
| 性别     |    |   |            |
| 男      | 38 | 15.62 ± 5.48                              | $P < 0.05$ |
| 女      | 14 | 16.94 ± 8.14                              |            |
| 年龄(岁)  |    |   |            |
| <35    | 8  | 15.42 ± 6.20                              | $P < 0.05$ |
| 35~60  | 32 | 18.46 ± 6.56                              |            |
| >60    | 12 | 14.32 ± 5.48                              |            |
| 肿瘤分化   |    |   |            |
| 高      | 16 | 14.66 ± 6.48                              | $P < 0.05$ |
| 中      | 14 | 18.62 ± 6.53                              |            |
| 低      | 22 | 17.46 ± 5.35                              |            |
| TNM 分期 |    |   |            |
| I + Ⅱ  | 20 | 12.23 ± 4.16                              | $P < 0.05$ |
| Ⅲ + Ⅳ  | 32 | 18.46 ± 6.64                              |            |

### 2.2 胃癌组经根治或姑息切除术前、后,外周血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>调节性 T 细胞水平比较

肿瘤切除术后 1 个月的 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞水平较术前明显下降( $P < 0.05$ ),而术后 1 周与术前比较无统计学差异( $P > 0.05$ )。

表2 胃癌组手术前后外周血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞水平比较(%)

|                                    | 术前                         | 术后 1 周                     | 术后 1 个月      |
|------------------------------------|----------------------------|----------------------------|--------------|
| CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> | 15.54 ± 5.51 <sup>1)</sup> | 14.86 ± 5.24 <sup>1)</sup> | 10.46 ± 2.66 |

注:1)与术后 1 个月相比, $P < 0.05$

## 3 讨论

CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞在维持自身免疫耐受中起重要作用,亦被称为调节性 T 细胞<sup>[1]</sup>。目前认为,CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞来源于胸腺,也可由成熟 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>T 细胞在外周淋巴组织中接触特异性抗原,或在免疫抑制因子作用下活化而形成的<sup>[2-4]</sup>。它具有免疫无能性和免疫抑制性两大特征。可能通过细胞之间直接接触的方式抑制其他效应性免疫细胞的功能,如抑制 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞、自然杀伤(NK)细胞的增殖及分泌白细胞介素

2(IL-2)的功能,抑制 CD8<sup>+</sup>记忆性 T 细胞的反应能力,下调树突状细胞(DC)的表面共刺激分子的表达,降低抗原递呈的效率等,是迄今为止所发现的最重要的免疫抑制细胞。有关 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>调节性 T 细胞在胃癌患者免疫抑制方面的临床报道目前尚不多见。

本研究健康对照组外周血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞水平为(8.63 ± 5.25)%,与国外文献报道(5~10)%近似。胃癌组外周血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞(15.54 ± 5.51)%较对照组明显升高,提示胃癌患者 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞的增加导致肿瘤免疫抑制,机体免疫监视和调节功能减弱,肿瘤细胞易于逃避免疫系统的清除。恶性肿瘤患者外周血表现出扩大的调节 T 细胞池,其增加的机制尚未阐明,可能是肿瘤分泌因子诱导 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞扩增,或是机体对抑制肿瘤局部持续炎症反应的生理防御现象。

本资料未发现胃癌组外周血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞比例与患者年龄、性别、肿瘤部位、肿瘤分化之间存在明显联系,而在 TNM 分期中Ⅲ + Ⅳ期患者术前外周血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞水平比 I + Ⅱ患者明显升高( $P < 0.05$ ),提示 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞可作为判断预后的指标。胃癌组经根治或姑息术切除肿瘤,减少瘤负 1 个月后,外周血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>调节性 T 细胞水平明显下降;表明其时患者免疫抑制减弱,免疫功能有所恢复。提示临床监测 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞水平变化有利于指导围手术期免疫治疗。降低 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞数量或抑制其活性有利于自身免疫性 T 细胞活化,为肿瘤免疫治疗提供了新的思路,对指导临床制定合理化和个体化的抗肿瘤治疗方案具有一定的临床意义。

### 参考文献:

- [1] Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, et al. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor  $\alpha$  chains (CD25) [J]. J. Immunol, 1995, 155(3):1151-1164.
- [2] Belkaid Y, Piccirillo CA, Mendez S, et al. CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>regulatory T cells control Leishmania major persistence and immunity [J]. Nature, 2002, 420(6915):502-507.
- [3] Barrat FJ, Cua DJ, Boonstra A, et al. In vitro generation of interleukin-10-producing regulatory CD4<sup>+</sup>T cells is induced by immunosuppressive drugs and inhibited by T helper type 1 (TH1) and TH2-inducing cytokines [J]. J Exp Med, 2002, 195(5):603-616.
- [4] Jordan MS, Boesteanu A, Reed AJ, et al. Thymic selection of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>regulatory T cells induced by an agonist self-peptide [J]. Nature Immunol, 2001, 2(4):301-306.